

重金属对扁玉螺过氧化氢酶活性的影响研究

任虹 杨洪 宁黔冀 刘传琳

(烟台大学 264005)

提要 离体条件下测定了扁玉螺肝脏过氧化氢酶的活性。结果表明,其最适 pH 值为 8.67, 蛋白含量为 0.2 ~ 2.1 mg/g。Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ 对过氧化氢酶既有激活作用也有抑制作用, 这种作用与各种离子的浓度有关。

关键词 扁玉螺, 过氧化氢酶, 重金属

生物体内许多酶促反应和非酶促反应都能产生 H₂O₂, 它是有毒害作用的活性氧的前体。过氧化氢酶 (简称 Cat) 可非常有效地催化 H₂O₂ 的分解, 使其失去活性氧的作用, 保护机体。因此在环境监测、生态毒理学等方面, Cat 作为一项重要指标得到广泛应用^[1, 2]。

Rainbow 1992 年研究指出, 海洋软体动物种类繁多, 它们对重金属的积累是非常普遍的, 但有关重金属对其 Cat 活性的影响未见报道。本文以扁玉螺 *Newtina diyna* (Rodrig) 为试验材料, 研究了铁、锌、铜等生物必需微量元素及非必需元素铅对 Cat 的影响, 旨在从生理角度探讨软体动物对重金属积累的意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

扁玉螺采自烟台芝罘湾, 螺体重为 15 ~ 20 g, 采回后在海水中暂养 12 ~ 24 h。

1.2 试剂

考马斯亮蓝 G250 为 Fluka 产品, 牛血清蛋白为中国医学科学院血酶所科技公司产品, 其余化学试剂均为国产分析纯。

1.3 酶源制备

扁玉螺洗净, 称重, 解剖出肝脏, 加入约 4 倍体积的 0.067 mol/L, pH 8.67 的磷酸缓冲液, 匀浆, 在 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为酶源备用。整个操作于 4 °C 进行。

1.4 过氧化氢酶活性的测定

过氧化氢酶活性的测定采用 K₂MnO₄ 法。蛋白含量的测定采用 Bradford 法。

1.5 重金属离子对 Cat 活性影响的测定

移取适量的 H₂O₂ 溶液、金属离子溶液、磷酸缓冲

液等溶液配成一定量的混合液, 向混合液中加入 Cat 酶源, 使蛋白含量为 0.8 ~ 1.72 mg/g, 立即摇匀并计时, 待反应达 2 min 时加入 10 ml 3.5 mol/L H₂SO₄ 溶液, 以终止反应。反应体系中 H₂O₂ 初始浓度 10 mmol/L, 总体积 20 ml, 反应温度 25 °C。对 Cat 的激活率 (或抑制率) 按下式计算: (加金属离子后酶促反应分解的 H₂O₂ 量 - 对照组酶促反应分解的 H₂O₂ 量) / 对照组酶促反应分解的 H₂O₂ 量。

2 结果与讨论

2.1 pH 对扁玉螺 Cat 活性的影响

pH 对 Cat 活性的影响见图 1, 结果表明, 在离体条件下, 扁玉螺肝脏 Cat 粗酶液最适 pH 为 8.67, 过高过低对酶活性影响较大。

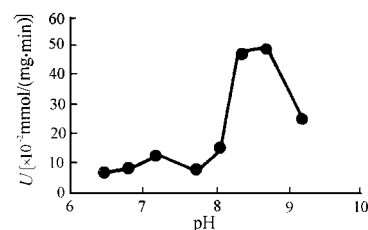


图 1 pH 对过氧化氢酶活力的影响

Fig.1 Effect of pH on the activity of catalase

2.2 蛋白含量对 Cat 活性的影响

酶源蛋白含量在 0.2 ~ 2.1 mg/1 g 范围内, 酶活性随含量的升高而逐渐增大, 呈较好的线性关系, 见

收稿日期: 1998-10-28; 修回日期: 1999-01-24

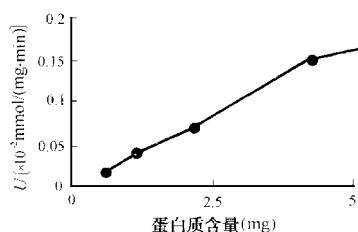


图2 蛋白含量对过氧化氢酶活力的影响
Fig.2 Effect of protein concentration on the activity of catalase

图2.当蛋白含量增加到4 mg/g时,酶活性趋于平稳,可能与底物耗尽有关。

2.3 重金属离子对 Cat 活力的影响

原子吸收光谱分析结果表明,扁玉螺肝脏中 Fe, Cu 和 Zn 3 种重金属含量较高, Pb 的含量远远低于上述离子,结果见表 1。

表 1 扁玉螺肝脏中重金属的含量

Tab.1 Concentration of heavy metals in hepatopancreas of *Neverita didyma*

金属	Fe	Cu	Zn	Pb
含量(μg/g,干重)	349	108	121	4.94

在上述最佳条件下,将不同的重金属离子溶液分别加到反应体系中,其中 Fe³⁺ 的实验是在 pH7.73 条件下进行的,结果表明,4 种金属离子对 H₂O₂ 的催化作用很小,可忽略不计,与石双群等的报道一致^[1]。但在酶促反应条件下,在一定的浓度范围内,4 种金属

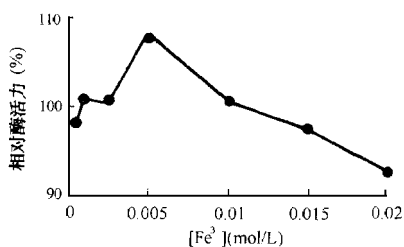


图3 [Fe³⁺]对过氧化氢酶活力的影响
Fig.3 Effect of [Fe³⁺] on the activity of catalase

离子对 Cat 都有一定的激活作用。

[Fe³⁺] 在 1.0 ~ 10.0 mmol/L 范围内,于 pH7.73 的水溶液中均有沉淀生成,但试验发现 [Fe³⁺] 对 Cat

有明显的激活作用,并在 5.0 mmol/L 处达到峰值,可能是由于 [Fe³⁺] 能被酶蛋白结合的量较大,并对酶的活性产生激活作用。[Cu²⁺] 在 1.0 × 10⁻⁶ mol/L 以下

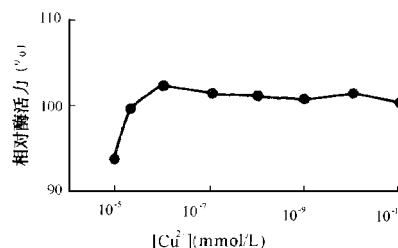


图4 [Cu²⁺]对过氧化氢酶的影响
Fig.4 Effect of [Cu²⁺] on the activity of catalase

对 Cat 都有一定的激活作用,但激活率随 [Cu²⁺] 的降低而递减。[Zn²⁺] 的作用与 Cu²⁺ 相似,只是有效激活浓度在 1.0 × 10⁻⁹ mol/L 以下。[Pb²⁺] 在 5.0 × 10⁻¹⁰ ~ 5.0 × 10⁻⁷ mol/L 之间对 Cat 有微弱的激活作用。Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ 虽是生物代谢所必需的微量元素,但超过一定的限度则对 Cat 有抑制作用,因而是有毒的。值得注意的是,Fe³⁺ 在较高的浓度范围内对 Cat 有较大的激活作用,这可能与 Cat 含 Fe³⁺ 原卟啉环有关,作为 Cat 的必需金属离子而使酶活性上升。相比之下,Pb²⁺ 不是机体所必需的,是海水中的污染物,它在浓度很低的情况下,对 Cat 酶促反应具有微弱的激活作用,这与徐炜虹等以蚯蚓为材料所得到的结果相似^[3],但 Pb²⁺ 如何提高 Cat 活性还有待于进一步研究。

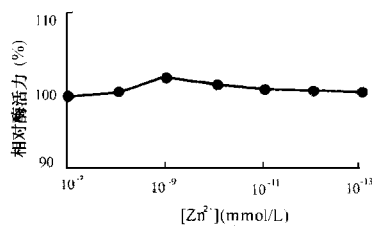


图5 [Zn²⁺]对过氧化氢酶活力的影响
Fig.5 Effect of [Zn²⁺] on the activity of catalase

海洋软体动物种类繁多,不同生物对重金属离子的积累具有明显的选择性,这是长期适应环境的结果。积累机制也是复杂的,一方面反映了生物的新陈 (下转 41 页)

(上接 55 页)

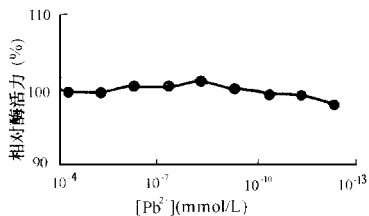


图 6 [Pb²⁺]对过氧化氢酶活性的影响

Fig. 6 Effect of [Pb²⁺] on the activity of catalase

代谢对重金属积累的调节作用,另一方面受环境因子子的制约^[4],对有些金属离子而言,高积累并不会对生物造成危害,有时甚至有益,这种有益可能会通过酶的作用来实现。

参考文献

- 1 石双群 陈惠兰等。河北师范大学学报,1995,19(3): 56 ~ 59
- 2 徐镜波 袁晓凡等。环境化学,1997,16(1):73 ~ 76
- 3 徐炜虹 杨齐衡等。华东师范大学学报,1996,4:95 ~ 101
- 4 翁焕新。环境科学学报,1996,16(1):51 ~ 58

THE EFFECT OF HEAVY METALS ON CATALASE FROM *Nevertia diyma* (Roding)

REN Hong YANG Hong NING Qianji LIU Chuanlin

(Department of Biochemistry, Yantai University 264005)

Received: Oct., 28, 1998

Key Words: *Nevertia diyma* (Roding), Catalase, Heavy metals

Abstract

The *in vitro* catalase activity in the hepatopancreas of *Nevertia diyma* (Roding) was measured. The result showed that the optimum pH was 8.64, and the optimal protein concentration 0.2 ~ 2.1 mg. Its catalytic activity was obviously activated by the following elements within their specific ranges Fe³⁺ (1.0 ~ 10.0 mmol/L), Cu²⁺ (below 1.0 × 10⁻⁶ mol/L), Zn²⁺ (below 1.0 × 10⁻⁹ mol/L) and Pb²⁺ (5.0 × 10⁻¹⁰ ~ 5.0 × 10⁻⁷ mol/L). (本文编辑:李本川)